



Vainukoira ihmisen Covid-19-taudin seulonnassa

Kirjallisuuskatsaus

Vainukoiria ihmisen Covid-19-taudin seulonnassa

Kirjallisuuskatsaus

Julkaisujen jakelu

Distribution av publikationer

**Valtioneuvoston
julkaisuarkisto Valto**

Publikations-
arkivet Valto

julkaisut.valtioneuvosto.fi

Julkaisumyynti

Beställningar av publikationer

**Valtioneuvoston
verkkokirjakauppa**

Statsrådets
nätbokhandel

vnjulkaisumyynti.fi

Sosiaali- ja terveys ministeriö

© 2021 tekijät ja sosiaali- ja terveysministeriö

ISBN pdf: 978-952-00-9998-5

ISSN pdf: 2242-0037

Taitto: Valtioneuvoston hallintoyksikkö, Julkaisutuotanto

Helsinki 2021

Vainukoira ihmisen Covid-19-taudin seulonnassa

Sosiaali- ja terveysministeriön raportteja ja muistioita 2021:15

Julkaisija Sosiaali- ja terveysministeriö

Tekijä/t Petri Ruutu
Toimittaja/t Kari S. Lankinen
Kieli Suomi

Sivumäärä 29

Tiivistelmä

Koirien hyvin herkkää hajuaistia on aikaisemmin käytetty laajasti huumeiden, räjähteiden ja miinojen etsimisessä. On lisääntyvää tietoa siitä, että koiran herkkä hajuaisti voi havaita ihmisen elimistön erittämiä haittuvia orgaanisia yhdisteitä.

Systemaattisessa kirjallisuushaussa koirien hajuaistin käytöstä Covid-19-taudin tunnistamisessa löytyi 6 alkuperäistuloksia sisältävää raporttia, joista 3 on ilmestynyt vertaisarvioituna.

Osassa tutkimuksista testinäytteiden lukumäärä oli erittäin pieni. Tutkimusasetelmat poikkesivat toisistaan. Osassa tutkimuksia väärin positiivisten löydösten osuus oli merkittävä.

Mahdollisesti lähimpänä laajan mittakaavan seulonnan kenttäolosuhteita oli osassa tutkimuksia käytetty hikinäytteen tai pitkään käytetyn potilasvaatteen haistelu.

Yhdessäkään tutkimuksessa asetelma ei sisältänyt koiran sijoittumista testin kohteena olevan henkilön lähelle, eli varsinaista suoran henkilöseulonnan kenttäsovellusta ei raportoitu.

Tutkimukset eivät ole vertailukelpoisia, mutta niiden tulokset antavat pohjan jatkotutkimuksille koirien käyttämisestä Covid-19-taudin seulonnassa. Niistä ei voi vetää johtopäätöstä vakiomenetelmästä, joka voitaisiin ottaa käyttöön laboratoriodiagnostiikan rinnalla tai sen sijasta esimerkiksi seulottaessa suuria määriä henkilöitä, joiden joukossa on myös oireettomia infektion kantajia.

Asiasanat pandemiat, koronavirukset, diagnostiikka, seulonta, koira

ISBN PDF 978-952-00-9998-5

ISSN PDF 1797-9854

Julkaisun osoite <http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-00-9998-5>

Användningen av specialsökhundar vid screening av covid-19 hos människor

Social- och hälsovårdsministeriets publikationer 2021:15

Utgivare Social- och hälsovårdsministeriet

Författare Petri Ruutu

Redigerare Kari S. Lankinen

Språk Finska

Sidantal

29

Referat

Hundarnas mycket känsliga luktsinne har tidigare utnyttjats i stor utsträckning för att söka efter narkotika, sprängämnen och minor. Kunskapen har ökat om att hundarnas känsliga luktsinne kan upptäcka flyktiga organiska föreningar som utsöndras av människokroppen.

I en systematisk genomgång av litteratur som handlar om användningen av hundars luktsinne för att känna igen covid-19 hittades 6 rapporter som innehöll nya resultat, av vilka 3 har publicerats efter att ha genomgått kollegial bedömning.

I en del av studierna var antalet prover mycket litet. Utformningen av studierna skiljde sig från varandra. I en del av studierna var andelen felaktiga positiva fynd betydande.

Det som mest påminde om omständigheterna vid omfattande fältscreening var luktandet på svettprov eller patientkläder som använts under en lång tid, vilket användes i en del av studierna.

Alla studierna var utformade på ett sådant sätt att hundarna inte placerades nära personen som testades, dvs. screening av människor direkt ute på fältet ingick inte.

Studierna är inte jämförbara, men resultaten utgör en grund för fortsatta studier av användningen av hundar vid screening av covid-19. Av studierna kan man inte dra några slutsatser om en standardmetod som skulle kunna införas vid sidan av laboratoriediagnostiken eller för att ersätta t.ex. screening av ett stort antal personer, däribland symptomfria bärare av infektionen.

Nyckelord luktsinnet, pandemier, coronavirus, diagnostik, screening, hund

ISBN PDF 978-952-00-9998-5

ISSN PDF

1797-9854

URN-adress <http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-00-9998-5>

Using sniffer dogs for screening human COVID-19

Publications of the Ministry of Social Affairs and Health 2021:15

Publisher Ministry of Social Affairs and Health

Authors Petri Ruutu

Editor Kari S. Lankinen

Language Finnish

Pages

29

Abstract

The extremely sensitive sense of smell of dogs has traditionally been widely used in the search for drugs, explosives and mines. There is increasing evidence that the dog's sensitive sense of smell can detect volatile organic compounds excreted by the human body.

A systematic literature search on the use of dogs' sense of smell in detecting COVID-19 yielded six reports containing original results, and three of them have appeared peer reviewed.

In some of these studies, however, the number of test samples was very small. The research designs moreover differed from each other. The proportion of false positive findings was significant in some of the referenced studies.

The sniffing of a sweat sample or long-worn patient clothing that was applied in part of the studies could be deemed as the closest to the field conditions in a large-scale screening.

In none of the experiments was the dog placed near the person subject to the test, i.e. no actual field application for direct screening of humans was reported.

While the referenced studies are not comparable, their results provide a basis for further studies on the use of dogs in screening COVID-19. The studies discussed do not allow to draw any conclusions about a standard method that could be introduced in parallel with, or in place of, laboratory diagnostics when screening e.g. large numbers of people, among them asymptomatic carriers of infection.

Keywords sense of smell, pandemics, coronaviruses, diagnostics, screening, dog

ISBN PDF 978-952-00-9998-5

ISSN PDF

1797-9854

URN address <http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-00-9998-5>

Sisältö

1	Tiivistelmä	7
2	Taustaa	9
2.1	Koiran hajuaisti	9
2.2	Haihtuvat orgaaniset yhdisteet	9
2.3	Koirien hajuaisti lääketieteellisessä seulonnassa ja diagnostiikassa	10
3	Koirien hajuaisti Covid-19-taudin seulonnassa	11
3.1	Vesga et al. – 6 koiraa Kolumbiassa – ei vertaisarvioitu	11
3.2	Jendry et al. – 8 koiraa Saksassa – vertaisarvioitu	12
3.3	Jendry et al. – 10 koiraa Saksassa – ei vertaisarvioitu	14
3.4	Grandjean et al. – 14 koiraa Ranskassa ja Libanonissa – vertaisarvioitu	16
3.5	Grandjean et al. – 27 koiraa Yhdistyneissä Arabiemiraateissa – ei vertaisarvioitu ..	18
3.6	Eskandari et al. – 6 koiraa Iranissa – vertaisarvioitu	20
4	Pohdinta	22
5	Johtopäätökset	25
6	Lähteet	26
6.1	Johdanto-osan viittaukset sekä alkuperäistuloksia sisältävät raportit	26
6.2	Aihepiiriä koskevat kirjallisuushaun artikkelit, jotka eivät sisällä alkuperäistuloksia	27
Liite 1	Kirjallisuushaun toteutus 21.3.2021	28
Liite 2	Tutkimustulosten tilastolliset tunnusluvut (%)	29

TEKIJÄ

Petri Ruutu (s. 1945) on infektio lääkäri, infektioepidemiologi ja emeritustutkimusprofessori. Kliinisen uransa (1981–1995) jälkeen hän toimi Kansanterveyslaitoksen ja Terveystieteiden tutkimuskeskuksen yksikönpäällikkönä ja osastojohtajana, vastuualueena Suomen tartuntatautiin seuranta ja torjunta (1995–2013), sekä näiden laitosten operatiivisen toiminnan johtajana lukuisten epidemioiden yhteydessä, mukaan lukien SARS ja sikainfluenssapandemia. Eläkkeelle siirryttyään Ruutu on toiminut konsulttina Maailman terveysjärjestön (WHO) ja Euroopan tautien ehkäisy- ja -valvontakeskuksen (ECDC) seuranta- ja torjuntajärjestelmien arvioinneissa sekä arviointien menetelmäkehityksessä. Hänellä on PubMed-tietokannassa noin 160 vertaisarvioitua julkaisua.

1 Tiivistelmä

Pandemioiden torjunnassa ja erityisesti laajamittaisessa seulonnassa tarvittaisiin nopeaa kenttäoloihin soveltuvaa menetelmää korvaamaan tai täydentämään käytössä olevaa laboriodiagnostiikkaa. Koirien hyvin herkkää hajuaistia on aikaisemmin käytetty laajasti huumeiden, räjähteiden ja miinojen etsimisessä. On lisääntyvää tietoa siitä, että koiran herkkä hajuaisti voi havaita ihmisen elimistön erittämiä haihtuvia orgaanisia yhdisteitä. Koirien hajuaistia on tutkittu useiden syöpälajien seulonnassa tai vaarallisten verensokeritasojen ennakkoinnissa. Infektiotautitutkimuksia on tehty ainakin malarian ja klostridioidi-infektion diagnostiikassa.

Systemaattisessa kirjallisuushaussa koirien hajuaistin käytöstä Covid-19-taudin tunnistamisessa löytyi 6 alkuperäistuloksia sisältävää raporttia, joista 3 on ilmestynyt vertaisarvioituna.

Osassa tutkimuksista testinäytteiden lukumäärä on ollut erittäin pieni. Tutkimusasetelmat poikkesivat toisistaan. Tutkimusasetelman tai testauksen vajavaisen dokumentaation vuoksi osassa ei voitu tehdä asiallista tilastollista käsittelyä, tai tutkimusasetelma aiheutti tilastollista harhaa. Useissa tutkimuksissa pientä lukumäärää näytteitä testattiin lukuisia kertoja samoilla koirilla ja näin saatiin aikaan suurehkoja kokonaistestimääriä. Tutkimuksissa on laskettu tilastollisia tunnuslukuja, jotka eivät ole vertailtavissa lääketieteellisten laboriotutkimusten validointiin. Osassa tutkimuksia väärin positiivisten löydösten osuus oli merkittävä.

Tutkimuksissa käytettiin näytteinä eri eritteitä. Yhdessä tutkimuksessa vertailtiin koirien kykyä osoittaa Covid-19-potilaiden ja verrokkien hiki-, sylki- ja virtsanäytteistä infektoituneet ja ei-infektoituneet henkilöt. Mahdollisesti lähimpänä laajan mittakaavan seulonnan kenttäolosuhteita oli osassa tutkimuksia käytetty hikinäytteen tai pitkään käytetyn potilasvaatteen haistelu. Osassa tutkimuksia näytteen käsittely ja käyttötapa testikohteena oli vajavaisesti kuvattu tai kuvaus puuttui.

Vain yhdessä tutkimuksessa oli 3 oireetonta Covid-19-taudinaiheuttajan (SARS-CoV-2) kantajaa, jollaisia todennäköisesti esiintyisi suuren mittakaavan seulonnassa: näiden tuloksia ei raportoitu erikseen. Samassa tutkimuksessa vertailtavana oli 4 muun mikrobin aiheuttaman hengitystieinfektiopotilaan näytteet, jollaisia ei ollut muissa tutkimuksissa.

Koirilla on havaittu harvoin Covid-19-taudin aiheuttajan tartuntoja, mutta tämäkin tulee ottaa huomioon seulontatilanteen järjestelyssä. Yhdessäkään tutkimuksessa asetelma ei sisältänyt koiran sijoittumista testin kohteena olevan henkilön lähelle, eli varsinaista suoran henkilöseulonnan kenttäsovellusta ei raportoitu.

Tutkimukset eivät ole vertailukelpoisia, mutta niiden tulokset antavat pohjan jatkotutkimuksille koirien käyttämisestä Covid-19-taudin seulonnassa. Niistä ei voi vetää johtopäätöstä vakiomenetelmästä, joka voitaisiin ottaa käyttöön laboratoriodiagnostiikan rinnalla tai sen sijasta esimerkiksi seulottaessa suuria määriä henkilöitä, joiden joukossa on myös oireettomia infektiota kantajia.

2 Taustaa

Covid-19-pandemian aikana laajamittainen koronavirusdiagnostiikka on muodostunut torjuntastrategian kulmakiveksi. Laboratoriodiagnostiikassa vertailustandardina toimii viruksen nukleiinihapon monistamiseen perustuva PCR-menetelmä.

PCR-menetelmät ovat hitaita ja vaativat huomattavasti resursseja tilanteissa, joissa tavoitteena on suurelle lukumäärälle henkilöitä nopeasti toteutettava menetelmä viruksen kantajien seulomiseksi. Laboratoriossa tai näytteenotto paikalla toteutettavaa pikadiagnostiikkaa on kehitetty, mutta nekin vaativat resursseja.

Tarve kehittää nopeasti toteutettavaa ja luotettavaa seulontaa ja diagnostiikkaa Covid-19-taudin toteamiseen on suuri.

2.1 Koiran hajuaisti

Koirilla on erittäin tarkka hajuaisti. Se perustuu hyvin suureen määrään hajureseptoreita sisältäviä soluja: ihmisellä niitä on noin 5 miljoonaa, mutta koiralla >200 miljoonaa (Lesniak et al. 2008). Parhaimmillaan koirat pystyvät haistamaan komponentin, jonka pitoisuus ilmassa on vain osia triljoonasta (parts per trillion) (Walker et al. 2006, Angle et al. 2016).

Koiria on pitkään käytetty menestyksellisesti tunnistamaan hajuaistillaan mm. maamiinoja, räjähteitä, huumeita ja ruumiita, ja etsimään henkilöitä hajujälkeen perustuen.

Hajujen tunnistamista varten on kehitetty laitteistoja, jotka ovat kuitenkin koirien hajuaistia epäherkempiä (Angle et al. 2016).

2.2 Haihtuvat orgaaniset yhdisteet

Kaikki solut tuottavat haihtuvia orgaanisia yhdisteitä (Volatile Organic Compounds, VOC). Elimistössä ne päätyvät verenkiertoon ja sitten ympäröivään ilmaan välittäjinä uloshengitys ilma, sylki, virtsa, ulosteet, ihon eritteet ja veri (Amann et al. 2014)

Ihminen erittää ympäristöönsä haihtuvia orgaanisia yhdisteitä. Yksilöillä on tästä johtuva ominainen hajuspektri (volatilomi), jonka koira haistaa. Näitä yhdisteitä erittyy jatkuvasti uloshengitysilmaan pitoisuuksina osia miljardista–triljoonasta, vereen ja virtsaan pitoisuuksina osia miljoonasta–miljardista (Schmidt et al. 2015).

2.3 Koirien hajuaisti lääketieteellisessä seulonnassa ja diagnostiikassa

On lisääntyvää tietoa siitä, että ihmisen erilaisissa tautitiloissa volatilomiin erittyy tautitilalle ominaisia hajuja, joita voidaan potentiaalisesti käyttää hajuun perustuvassa seulonnassa tai diagnostiikassa.

Koirien hajuaistin käyttöä diagnostiikassa on tutkittu mm. keuhkosityövän (McCulloch et al. 2006, Buszewski et al. 2012), rintasyövän (McCulloch et al. 2006), melanooman (Pickel et al. 2004), prostatasyyövän (Taverna et al. 2015), virtsarakkosyyövän (Willis et al. 2010) ja paksusuolisyövän (Sonoda et al. 2011), diagnostiikassa sekä hypoglykemian ja hyperglykemian ennakkoinnissa tai diagnostiikassa (Rooney et al. 2019).

Infektiotauoissa on tutkittu koiran hajuaistin käyttöä ainakin *Clostridioides difficilen* (Bomers et al. 2014, Taylor et al. 2018) ja malarian (Guest et al. 2019) diagnostiikassa.

Koivusalo ja Reeve (2018) ovat esittäneet kriittiset periaatteet, joita tulisi noudattaa arvioitaessa hajukoirien käyttöä terveysteknologiana suhteessa muuhun kriittisesti arvioitavaan terveysteknologiaan:

- 1) Kliinisen vaikuttavuuden arviointi
 - a. yhtä hyvä tai parempi kuin jo käytössä oleva menetelmä
- 2) Turvallisuusnäkökohtien arviointi
 - b. turvallisuus, riskit ja haitat
- 3) Taloudellinen arviointi
 - c. kustannus-hyöty

3 Koirien hajuaisti Covid-19-taudin seulonnassa

21.3.2021 toteutetuilla PubMed- ja Medline-tietokantahauilla, sekä WHO:n Covid-19-tietokantahauilla löytyi 3 vertaisarvioitua ja 3 bioRxiv-arkistoitua vertaisarvioimatonta raporttia, jotka sisältävän alkuperäistuloksia koirien hajuaistin käytöstä Covid-19-taudin seulonnassa. Kirjallisuushakujen toteutustapa on liitteenä (Liite 1).

3.1 Vesga et al. – 6 koira Kolumbiassa – ei vertaisarvioitu

Kirjallisuusviite: Vesga O, Valencia A, Mira A et al. Dog Savior: Immediate Scent-Detection of SARS-CoV-2 by Trained Dogs. bioRxiv June 2020.

Menetelmät

- Koirien koulutus: 6 kolmeen eri koirarotuun kuuluvaa koira koulutettiin kolmivaiheisesti, kokonaiskesto 7 vk; koira merkitsi positiivisen näytteen tunnistuksen käymällä maahan.
- Näytteet:
 - 12 sairaalassa hoidossa olevan PCR -testillä varmistetun Covid-19-potilaan hengitystie-erite (sylki, nenänielun tikkunäyte tai aspiraatti)
 - 100 tervettä PCR-negatiivista vapaaehtoista, joista sylkinäyte
 - koirien koulutuksen ensi vaiheen verrokkina keittosuolaliuos
 - näytteet astiassa, jonka kansi/peitto päästi lävitse haihtuvia orgaanisia yhdisteitä (VOC)
- Tutkimusasetelma:
 - testit toteutettiin laajalla ulkokentällä 2 metrin välein 80 cm korkeuteen pylväisiin asetetuin näytepulloin ad 100 näytettä per kukin koiran 'testiajo',
 - koulutusvaihe: tuloksista riippuen kukin koira haistoi 100–1000 näytettä saavuttaakseen seuraavan vaiheen kenttäkelpoisuuden; testissä positiivisten näytteiden prevalenssia vaihdeltiin välillä 1–10 %,
 - validaatiovaihe: koira haistoi 100 näytettä per testiajo, positiivisten näytteiden prevalenssia vaihdeltiin välillä 1–5 %.

Tulokset

- Koulutusvaihe: yhteensä 3200 'näytettä'; ryhmänä koirien sensitiivisyys oli 89 %, spesifisyys 97 %, positiivinen ennustearvo PPV 75 % ja negatiivinen ennustearvo NPV 99 %
- Validaatiovaihe: yhteensä 6000 'näytettä'; ryhmänä sensitiivisyys 96 %, spesifisyys 99 %, positiivinen ennustearvo 86 % ja negatiivinen ennustearvo 99 %.

Rajoitukset

- Suuresta ilmoitetusta testimäärästä huolimatta sekä koulutus- että validointivaiheessa käytettiin vain 12 Covid-19-potilaan näytteitä.
- Rakenteeltaan sekava käsikirjoitus, joka ei ole ilmestynyt vertaisarvioituna jo 6/2020 tapahtuneesta bioRxiv-rekisteröinnistä huolimatta.

Johtopäätökset

- Vaikka raportin ilmoittamat sensitiivisyys- ja spesifisyysarvot ovat varsin korkeita, samojen lukumääräisesti vähäisten Covid-19-potilasnäytteiden käyttö monta kertaa näytteinä sekä koulutus- että validointivaiheessa kyseenalaistaa tulosten yleistettävyyden.
- Useimmissa muissa alkuperäistutkimuksissa on kiinnitetty huomiota siihen, että koirien koulutus- ja validointivaiheessa ei käytetä samoja näytteitä, eikä validointivaiheessa käytetä samaa näytettä uudelleen saman koiran testauksessa.

3.2 Jendrny et al. – 8 koiraa Saksassa – vertaisarvioitu

Kirjallisuusviite: Jendrny P, Schulz C, Twele F et al. Scent dog identification of samples from Covid-19 patients – a pilot study. BMC Infect Dis, July 2020.

Menetelmät

- Koirien koulutus: 8 koiraa, joiden rotua ei mainittu; koulutuksen kesto 3 viikkoa käsitäten (1) totuttautumisen testilaitteistoon, ja (2) koulutusvaiheen tuloksen, jossa positiivisen näytteen oikea tunnistaminen ylitti satunnaistodennäköisyyden.

- Näytteet:
 - sylki- ja trakeobronkiaalisia näytteitä 7 sairaalahoidossa olevalta PCR:llä varmistetuilta Covid-19-potilaalta; näytteet inaktivoitiin beetapropiolaktonilla tartuntariskin poistamiseksi (näytteet peräisin kahdesta sairaalasta),
 - verrokkeina 7 PCR-negatiivista henkilöitä, joilla ei ollut aikaisemmin Covid-19-tautia eikä äskettäin infektio-oireita, osa näytteistä käsiteltiin beetapropiolaktonilla,
 - 100 µl näytettä pipetoitiin puuvillatuppoon, joka asetettiin 4 ml:n lasiputkeen.
- Tutkimusasetelma:
 - Testinäytteiden asettelussa käytettiin laitetta, joka asettelee näytteet satunnaisesti ilman kouluttajan osallistumista. Laitteessa on 7 reikää, joiden takana on kaksi letkua: toinen johtaa positiiviseen ja toinen kontrollinäytteeseen. Laite asetti kussakin 7 reiän sarjassa kussakin testiajossa vain yhden reiän kohdalle positiivisen näytteen, ja vaihtoi taas järjestystä koiran haisteltua kaikki 7 reikää.

Tulokset

- Koulutusvaiheessa käytettyjen erillisten näytteiden lukumäärää ei kerrota
- Kaikkiaan 8 koiraa teki koulutusvaiheessa 10 388 yksittäistä tunnistustestiä.
- Validaatiovaiheessa käytettiin 7 Covid-19-potilaan näytettä (2 trakeobronkiaalieritettä ja 5 sylkinäytteitä) ja 7 verrokin näytteitä.
- Validaatiovaiheessa koirilta ja ohjaajilta sokkoutetulla menetelmällä saadut tunnusluvut yhteensä 1012 yksittäisestä näytetunnistuksesta olivat kaikille koirille ryhmänä:
 - sensitiivisyys 83 %, spesifisyys 96 %, positiivinen ennustearvo 84 % ja negatiivinen ennustearvo 96 % (prevalenssi $1/7 = 14\%$); 33 väärää positiivista ja 30 väärää negatiivista tunnistusta,
 - koirien välillä oli merkittävää vaihtelua positiivisessa ennustearvossa.

Rajoitukset

- Käytettiin pientä lukumäärää näytteitä suureen lukumäärään toistotestejä samalla koiralla. Tämä tuo harhaa verrattuna todelliseen seulontatilanteeseen

Johtopäätökset

- Suuntaa antava tutkimus, jonka tuloksen varmistamiseksi tarvitaan selvästi suurempia testattavien erillisten näytteiden määriä kenttäoloissa, ja vertailua muihin hengitystieinfektioita aiheuttaviin mikrobeihin/tauteihin.

3.3 Jendrny et al. – 10 koira Saksassa – ei vertaisarvioitu

Kirjallisuusviite: Jendrny P, Twele F, Meller S et al. Scent dog identification of SARS-CoV-2 infections, similar across different body fluids. bioRxiv March 2021.

Menetelmät

- Koirien koulutus:
 - 10 Saksan puolustusvoimien neljään eri rotuun kuuluvaa koira, joista osalla taustalla oli suojaustyö tai räjähteiden haku, osalla vain tottelevaisuuskoulutus.
 - Koulutuksen kesto 2 vk käsittäen (1) totuttautumisen testilaitteistoon, ja (2) koulutusvaiheen erottamaan Covid-19-potilaan sylkinäyte terveiden kontrollien sylkinäytteistä
 - Koirat haistoivat kutakin näytettä vähintään 2 sekuntia ja siirtyivät sitten seuraavaan näytteeseen
- Näytteet:
 - Sylkeä kerättiin pillillä näyteputkeen 1–3 ml; hikinäytteen saamiseksi testihenkilö pyyhki kainaloaan puuvillasiteellä; virtsaa koottiin 5 ml.
 - Kaikille näytteille tehtiin PCR - määrittäminen ja ne säilytettiin -80 °C:ssä käyttöön asti.
 - Testausta varten näytteet inaktivoitiin beetapropiolaktonilla koirien koulutusvaiheessa
 - Varsinaisessa validointivaiheessa BSL3-turvaboratoriossa asetettiin erityisesti koirien haistelua varten kehitettyyn lasiastiaan vakioitu puuvillainen siteen pala, johon oli imeytetty 100 µl nestemäistä näytettä tai pala kainalon hikinäytteen otossa käytettyä puuvillaista siteen palaa.
 - Haistelussa käytetty näyteastia suljettiin hajut läpäisevällä kalvolla.
 - Kaikkiaan näytteitä kerättiin 93 henkilöstä (hyvin monimutkainen liitetaulukko, ei jäsentelyä menetelmä- tai tulosesassa). Testihenkilöt olivat:
 - PCR-testillä varmennettuja oireisia Covid-19-potilaita, jotka olivat sairaalatai avohoidossa (N=44)
 - PCR-testillä varmennettuja oireettomia Covid-19-infektion aiheuttajan kantajia (N=3)
 - hengitystieinfektiota, joilla muu taudinaiheuttaja (N=4)
 - terveitä PCR - negatiivisia (N=42)
- Tutkimusasetelma:
 - Sama asetelma kuin saman ryhmän toisessa tutkimuksessa: testinäytteiden asettelussa käytettiin laitetta, joka asettelee näytteet satunnaisesti ilman kouluttajan osallistumista. Laitteessa on 7 reikää, joiden takana on kaksi letkua: toinen johtaa positiiviseen ja toinen kontrollinäytteeseen. Laite asetti kussakin 7 riän testiajossa näytteet, ja vaihtoi taas järjestystä koiran haisteltua kaikki 7 reikää.
 - Koulutus- ja validointivaiheissa ei käytetty samoja näytteitä.
 - Koulutuksen 2-vaiheessa verrattiin 12 Covid-19-potilaan ja 12 terveen verrokin sylkinäytteitä, jotka oli inaktivoitu beetapropiolaktonilla.

- Varsinaisessa validointivaiheessa näytteitä ei ollut inaktivoitu. Testaus tehtiin BSL2-turvatason laboratoriossa siten, että mukana oli näytteitä oireisilta Covid-19-potilailta, ko taudinaiheuttajan oireettomilta kantajilta, muita hengitystieinfektioita sairastavilta sekä terveiltä verrokeilta.

Tulokset

- Validointitestien ensimmäisellä kierroksella, jolloin siirryttiin käyttämään ei-inaktivoituja näytteitä, koirien seulontatarkkuus ryhmänä oli: sensitiivisyys 84 %, spesifisyys 95 %
- Validointitesteissä kutakin eri näytelajia oli 14 henkilöstä: eri näytetyypit olivat eri henkilöistä (yhteensä 42 henkilöstä 42 näytettä, joita koirat haistoivat toistuvasti eri testiajoissa)
- Koirat haistoivat yhteensä 5308 kertaa, joissa 92 % tunnistuksista osui oikein
 - 723 osoitusta oikein Covid-19-potilaan tai sen aiheuttajan oireettoman kantajan näytteestä
 - 4140 osoitusta oikein terveen verrokin tai muuta hengitystieinfektiota sairastavan henkilön näytteestä
 - 231 virheellistä osoitusta vääränä negatiivisena todellisuudessa Covid-19-potilaan tai sen aiheuttajan oireettoman kantajan näytteestä
 - 214 virheellistä osoitusta vääränä positiivisena henkilöllä, joka ei ollut Covid-19-potilas tai sen aiheuttajan oireeton kantaja
- Validointitesteissä koirat haistelivat kussakin 7-näytteen sarjassa aina samaa näytelajia (sylki, hiki, virtsa). Tulokset eri näytetyypeille olivat (kaikkien koirien mediaanit)
 - hiki: sensitiivisyys 91 %, spesifisyys 94 %, positiivinen ennustearvo 77 %, negatiivinen ennustearvo 97 %
 - sylki: sensitiivisyys 82%, spesifisyys 96%, positiivinen ennustearvo 76 %, negatiivinen ennustearvo 95 %,
 - virtsa: sensitiivisyys 95 %, spesifisyys 98 %, positiivinen ennustearvo 90 %, negatiivinen ennustearvo 99 %.
- Koirien välillä oli huomattavia eroja sensitiivisyydessä ja spesifisyydessä sekä negatiivisessa ja positiivisessa ennustearvossa, koirien välinen hajonta oli pienin virtsanäytteistä
- 93 eri henkilöltä kerätyistä testimateriaaleista itse hajutestauksessa käytetty näyte oli PCR-testillä positiivinen Covid-19-taudinaiheuttajalle 12 potilaalla.

Rajoitukset

- Verrokeissa pieni lukumäärä muita hengitystieinfektioita sairastavia
- Oireettomien Covid-19-taudin aiheuttajan kantajien lukumäärä oli pieni eikä näitä testaustuloksia eritelty. Tällä on erityinen merkitys suuren mittakaavan seulonnan osuvuutta ja seurauksia arvioitaessa.
- Validointivaiheessa eri henkilöistä peräisin olevien näytteiden lukumäärä oli pieni.

- Merkittävä koirien välinen vaihtelu osuvuudessa
- Merkittävä määrä vääriä positiivisia löydöksiä

Johtopäätökset

- Koska koirat tunnistivat jokseenkin yhtä hyvin inaktivoituja kuin inaktivoimattomia näytteitä, jatkotutkimuksissa voitaneen käyttää beetapropiolaktoni-inaktivoituja näytteitä, mikä yksinkertaistaa bioturvallisuuteen liittyviä koejärjestelyjä.
- Koirat tunnistivat eri näytetyypeistä Covid-19-taudinaiheuttajan infektoimien ja verrokkien näytteet jokseenkin samalla osuvuudella
- Myös oireettomia Covid-19-taudinaiheuttajan kantajia voidaan mahdollisesti tunnistaa oireilevien lisäksi (näiden tuloksia ei esitetty erikseen)
- Koska näytemateriaaleista vain pieni osa (12/93) sisälsi PCR-menetelmällä osoitettua virusta, on ilmeistä, että koirat tunnistavat infektion aiheuttamia muutoksia metaboliassa (VOC), eivätkä itse SARS-CoV-2 -virusta.
- Jatkovalidointi edellyttää todellisissa kenttäolosuhteissa tapahtuvaa testausta suuremmilla testattujen lukumäärillä

3.4 Grandjean et al. – 14 koiraa Ranskassa ja Libanonissa – vertaisarvioitu

Kirjallisuusviite: Grandjean D, Sarkis D, Lecoq-Julien C et al. Can the detection dog alert on COVID-19 positive persons by sniffing axillary sweat samples? A proof-of-concept study. PLoS ONE 15(12)e0243122.

Menetelmät

- Koirien koulutus:
 - 14 koiraa, joiden koulutustausta oli räjähteiden havaitseminen, ihmisten etsintä tai paksusuolisyövän diagnostiikka (huumekoirat saattaisivat tunnistaa seulottavan näytteestä huumeen, ei kohteena olevaa infektiota).
 - Koulutus kesti 1–3 viikkoa, ja sisälsi neljä vaihetta: viimeisessä vaiheessa koira tunnisti 3 tai 4 näytteen sarjassa Covid-19-potilaan näytteen. Kun harjoittaja arvioi koiran suorituksen riittävän hyväksi, koira jatkoi varsinaiseen testivaiheeseen. Tarvittava määrä tunnistuksia kullakin koiralla vaihteli 4–10.
 - Koulutuksen loppuessa siihen osallistuneista 14 koirasta 8 ei saavuttanut koulutuksen tavoitteita, ja siksi varsinaiseen testaukseen osallistui vain 6 koiraa.
- Näytteet:
 - PCR:llä varmistetut Covid-19-potilaat olivat oireisia, verrokkit muusta syystä samassa sairaalassa hoidettuja tai sairaalan hoitajia. Henkilöillä ei saanut olla lääkkeitä kehoittoa pitempään kuin 36 tuntia ennen PCR-testiä.

- Koulutettu sairaalan henkilöstö kokosi kainalohikinäytteet inertteihin polymeeriputkiin käyttäen steriiliä 2x2 cm sideharsolappua tai steriiliä räjähteiden etsimisessä käytettyä sideharsosuodatinta, joka oli kainalossa 20 min.
- Näytteitä säilytettiin vakioidussa lämpötilassa (Ranska +18 °C, Libanon +6 °C) ja 45 %:n kosteudessa.
- Ranska: 27 Covid-19-potilasta, verrokkeja 34
- Libanon: 68 Covid-19-potilasta, verrokkeja 48
- Tutkimusasetelma:
 - Kukin testisarja tapahtui käyttäen yhteen riviin asetettuna 3 tai 4 telineettä, joissa on iso suppilo haistelua varten ja sen takana näytteen sisältävä polymeeriputki.
 - Testin järjestelijä asetti telineisiin kuhunkin 3–4 näytteen sarjaan satunnaistettuna yhden Covid-19-potilaan näytteen, ainakin yhden verrokinäytteen, sekä 0–2 valenäytettä. Sarjan telineiden lukumäärä (3 tai 4) riippui siitä, mikä koiran protokolla oli ollut aiemmassa tunnistustyössään. Asettelu oli sokkoutettu koiran ohjaajalta ja koiralta.
 - Testivaiheessa ei käytetty koulutusvaiheessa käytettyjä näytteitä.
 - Testivaiheessa samaa näytettä käytettiin samalle koiralle 2 tai 3 kertaa eri testisarjoissa.
 - Kukin koira oli koulutettu tunnistamaan 3 tai 4 näytteen sarjassa aina vain yhden testin positiivisena: koira haisteli siksi kaikki näytteet ennen kuin markkeerasi yhden niistä.
 - Testaus kesti kaikkiaan 21 päivää, koska useimmat koirat eivät työskentele päivittäin
 - Testitilan lämpötila oli + 18 °C ja suhteellinen kosteus 50 %, jotka ovat standardeja koiran hajuaistilla tapahtuvalle testaukselle.

Tulokset

- Tutkimusasetelmasta johtuen tuloksista ei voi tilastollisten ohjeiden mukaan laskea spesifisyyttä tai sensitiivisyyttä. Siksi tulosindikaattorina käytettiin ’onnistumisosuutta’ (success rate) jakamalla kunkin koiran onnistuneiden (oikea tunnistus) testisarjojen lukumäärä koiran suorittamien testisarjojen lukumäärällä.
- Kukin koira toteutti 31–68 testisarjaa.
- ’Onnistumisosuus’ vaihteli koirien välillä: neljällä koiralla se oli yli 90 %, ja tämän indikaattorin luottamusvälin alaraja oli näistä kahdella yli 90 %, kolmella koiralla selvästi sen alle (alin onnistumisosuus 76 %).
- Testisarjojen aikana kaksi koirista tunnisti toistetusti kahden verrokkina mukana olleen näytteen ’Covid-19-positiiviseksi’. Tästä johtuen sairaalassa testattiin kyseiset verrokkihenkilöt uudelleen, jolloin Covid-19-taudinaiheuttajan PCR-testi osoittautui positiiviseksi kummallakin.

Rajoitukset

- Testijärjestely, jossa 3 tai 4 näytteen sarjasta vain 1 on etsittävän ominaisuuden suhteen positiivinen, ja tämä on systemaattisesti koulutettu koiralle, aiheuttaa harhaa todelliseen diagnostiikka- tai seulontatilanteeseen nähden, jossa tällaista oletusta ei voi olla.
- Valenäytteet eivät ole peräisin ihmisiltä, minkä vuoksi ne eroavat ihmisen eritteitä sisältävistä näytteistä niin paljon, että ko. seikka erottaa asetelman selvästi kenttäolosuhteissa tapahtuvasta diagnostiikasta.
- Enemmistö koirista ei täyttänyt koulutusvaiheen jälkeen tavoitetta, joka niille oli asetettu varsinaiseksi testauskypsyudeksi.

Johtopäätökset

- Koirien suoriutuminen ryhmänä ylitti selvästi todennäköisyyden, jolla oikea diagnoosi syntyisi sattumanvaraisesti, mutta niiden välillä oli eroja osuvuudessa.
- Mahdollisen kenttäolosuhteisiin tapahtuvan jatkokehittämisen näkökulmasta näytetyppejä käytetty hiki tarjoaa realistisen kehityssuunnan jatkovalidoinneille.

3.5 Grandjean et al. – 27 koiraa Yhdistyneissä Arabiemiraateissa – ei vertaisarvioitu

Kirjallisuusviite: Grandjean D, Al Marzooqi D, Lecoq-Julien C et al. Use of canine olfactory detection for Covid-19 testing study on U.A.E. trained detection dog sensitivity. bioRxiv January 20, 2021. Ei vertaisarvioitu.

Menetelmät

- Koirien koulutus:
 - 21 UAE:n poliisivoimien, armeijan ja tullin 6 eri rotuun kuuluvaa koiraa, joiden koulutustausta oli räjähteiden havaitseminen tai ruumiiden etsintä.
 - Koulutus kesti oli 2 viikkoa, ja sisälsi neljä vaihetta, jotka kuvattu eo Grandjean et al. -raportissa.
- Näytteet:
 - PCR:llä varmistetut Covid-19-potilaat olivat oireisia, verrokkit muusta syystä samoissa sairaaloissa hoidettuja PCR-negatiivisia potilaita
 - Hikinäytteet kerättiin asettamalla polymeeriputki kainalokuoppaan ad 20 minuutin ajaksi (20 min 85 %:ssa). Pieni määrä (14 %) hikinäytteitä kerättiin yhden alusvaatekerroksen läpi. Näytteet säilytettiin +4 °C lämpötilassa käyttöön asti.
 - Näytteitä käytettiin bioturvasyistä >24 h kuluttua niiden keräämisestä.

- Tutkimusasetelma
 - Kukin testisarja tapahtui yleensä 5 (pienessä lukumäärässä sarjoja 7) yhteen riviin asetetulla telineellä, joissa on iso suppilomainen 'torvi' haistelua varten ja sen takana näytteen sisältävä polymeeriputki.
 - Testin järjestelijä asetti telineisiin kuhunkin sarjaan satunnaistettuna (vain) yhden Covid-19-potilaan näytteen ja ainakin yhden PCR-negatiivisen henkilön näytteen. Loput näytetelineet eivät sisältäneet näytettä. Asettelu oli sokkoutettu koiran ohjaajalta ja koiralta.
 - Koira osoitti tunnistuksen istahtamalla, pysähtymällä tai haukkumalla.
 - Testivaiheessa ei käytetty koulutusvaiheessa käytettyjä näytteitä.
 - Testituloksista merkittiin muistiin vai osoitukset, jotka koskivat Covid-19-potilaasta peräisin olevaa näytettä kussakin sarjassa (oikea/väärä).

Tulokset

- Tutkimusasetelmasta ja tulosten muistiinmerkintätavasta johtuen tuloksista voi laskea sensitiivisyyden, mutta ei spesifisyyttä eikä negatiivista tai positiivista ennustearvoa. Tilastollisessa käsittelyssä myös poistettiin saman koiran toistamiseen haistamia positiivisten näytteiden tuloksia vaikutuksiltaan epäselvällä tavalla. Lisäksi yritettiin laskea 'matched' herkkyyspotilaiden eri taustatekijöiden suhteen.
- Koulutuksen viimeisessä vaiheessa kukin koira haisteli 55–106 näytettä. Siihen osallistuneiden 21 koiran oikeiden tunnistusten osuudet vaihtelivat 70–100 %.
- Validaatiotesteissä 151 näytettä Covid-19-potilaista, verrokkeja 110 (yhteensä 261)
- Validointivaiheessa kukin koira toteutti 15–60 testisarjaa (mediaani 35). Oikeiden tunnistusten osuudet vaihtelivat 71–100 %; kolmella koiralla <80 % ja 15/21 koiralla >90 %.

Rajoitukset

- Tutkimusasetelmallisesti heikkolaatuisia tuloksia käsiteltiin tilastollisesti erikoisilla tavoilla.
- Eri koulutus- ja validointivaiheiden sisällön ja tulosten erittely sekä osin erikoisten tilastollisten käsittelyjen vaikutus lopputulokseen jäävät epäselväksi.
- Käsikirjoituksen eri osissa on keskinäisesti ristiriitaisia toteamuksia ja tietoja.

Johtopäätökset

- Tutkimusasetelmaan ja tulosten esittämiseen liittyvistä huomattavista heikkouksista huolimatta antaa tukea jatkotutkimuksille, joilla varmistettaisiin koirien kykyä toteuttaa tutkittavan henkilön hien tai hajun perusteella Covid-19-seulontadiagnostiikkaa.

3.6 Eskandari et al. – 6 koiraa Iranissa – vertaisarvioitu

Kirjallisuusviite: Eskandari E, Marzaleh M, Roudgari H et al. Sniffer dogs as a screening/diagnostic tool for COVID-19: a proof of concept study. BMC Infect Dis February 2021.

Menetelmät

- Koirien koulutus:
 - 6 viittä eri rotua olevaa koiraa koulutettiin 7 viikon ajan kirjallisuudessa kuvattulla metodilla.
 - Koulutusvaiheessa kukin koira kävi läpi koulutusrutiinin keskimäärin 1000 kertaa ja toteutti noin 120 näytetunnistusta.
- Näytteet:
 - Tutkimuksen ensi vaiheessa näytteet olivat tehohoidossa olevien PCR-varmistettujen Covid-19-potilaiden nielu- tai nenänielueritettä, verrokkina terveiden PCR-negatiivisten henkilöiden vastaava erite.
 - Tutkimuksen toisessa vaiheessa näytteinä olivat sairaalahoidossa olevien Covid-19-potilaiden >24 tunnin ajan käyttämät suu-nenäsuojukset ja vaatteet. Verrokeilta saadut samanlaiset näytteet olivat potilailta, jotka oli otettu sairaalaan muusta syystä ja olivat PCR-negatiivisia.
 - Näytteiden prosessoinnista tai viiveestä käyttöön ottamisessa ei anneta tietoja. Raportin tulosesä mainitaan, että nielunäytteet olivat koeputkissa. Suu-näsuojusten ja vaatteiden tarkkaa käyttötapaa testitilanteessa ei kuvattu
 - Näytteet olivat peräisin useasta eri sairaalasta.
- Tutkimusasetelma
 - Näytteet asetettiin 10 näytteen erissä koirien harjoitus/koulutuspyörään, jota ei kuvata. Kukin 10 näytteen ryhmä sisälsi 1–3 Covid-19-potilaan näytettä (prevalenssi vaihdellen 10–30 %).
 - Tutkimuksen validointivaiheen ensi osassa kaksi koiraa tunnisti 30 nielunäytettä ja yksi koira 20 näytettä: yhteensä 80 näytettä joista 26 oli Covid-19-potilailta ja 54 verrokeilta
 - Tutkimuksen toisessa vaiheessa koirat tunnistivat 120 vaate- tai suu-näsuojusnäytettä, joista 50 oli Covid-19-potilailta ja 70 verrokeilta.

Tulokset

- Validointitutkimuksen ensi vaiheessa kolme koiraa tunnisti yhteensä 80 nielunäytettä (kukin koira eri näytesetit 30, 30, 20)
 - Ryhmänä koirat tunnistivat 26 Covid-19-potilaiden näytteistä oikein 17, ja 54 verrokinäytteistä 48 oikein; sensitiivisyys oli 65 %, spesifisyys 89 %, positiivinen ennustearvo 73 %, negatiivinen ennustearvo 83 %.

- Koirien välillä oli eroja osuvuudessa: sensitiivisyys vaihteli 60–83 %, spesifisyys 85–93 %, negatiivinen ennustearvo 80–92 % ja positiivinen ennustearvo 67–82 % (kukin koira tunnisti eri näytesarjan)
- Validointitutkimuksen toisessa vaiheessa toinen kolmen koiran ryhmä tunnisti yhteensä 120 potilasvaate- tai suu-nenäsuojusnäytettä: havaintomääristä päätellen tässäkin vaiheessa kukin koira tutki eri otoksen näytteistä (raportti ei kuvaa menettelyä)
 - Ryhmänä koirat tunnistivat 50 Covid-19-potilaan näytteestä oikein 43, ja 70 verrokinäytteestä 65 oikein: sensitiivisyys oli 86 %, spesifisyys 93 %, negatiivinen ja positiivinen ennustearvo molemmat 90 %.
 - Koirien välisiä eroja ei esitetty: näyttää ilmeiseltä, että ne jakoivat keskenään 120 näytettä kukin omaan tunnistussarjaansa kuten validointivaiheessa 1.

Rajoitukset

- Suu-nenäsuojusten ja potilasvaatteiden tarkkaa käyttötapaa näytteenä ei kuvata
- Koirat tunnistivat kukin eri näyteotoksen molemmissa tutkimuksen vaiheissa, joka vähentää mahdollisuuksia verrata koirien välistä todellista eroa tunnistuksessa
- Näytteiden käsittelyä, varastointia ja asettelua näytteeksi ei ole kuvattu riittävän yksityiskohtaisesti

Johtopäätökset

- Tutkimuksen havaintomäärä antaa hyvän pohjan esitetyn hypoteesin/toiminnan konseptin tueksi
- Koetilanteen vajavainen kuvaus erityisesti toisessa vaiheessa vaikeuttaa päättelyä, missä määrin tilanne simuloi todellista seulontatilannetta kenttäolosuhteissa
- Koirien välillä on todennäköisesti eroja näytetunnistusten osuvuudessa

4 Pohdinta

Alkuperäistuloksia sisältäviä raportteja koirien toteuttamasta Covid-19-tapausten tunnistamisesta on kuusi, joista kolmea ei ole vielä vertaisarvioitu. Tulokset antavat pohjaa jatkotutkimuksille koirien hajuaistin käyttämisestä Covid-19-tapausten seulonnassa, mutta tuloksista tehtävissä johtopäätöksissä on otettava huomioon tutkimuksien merkittävät rajoitteet.

Kahdessa toteuttamiskelpoisuus- eli proof-of-concept-tyyppisessä tutkimuksessa Covid-19-potilaista peräisin olleita näytteitä oli vain noin 10, verrokkien määrä sama tai jonkin verran suurempi (Vesga et al. 2020, Jendrny et al. 2020). Muissa neljässä tutkimuksessa Covid-19-tapauksista peräisin olevia näytteitä oli 44–150, ja verrokkeja jonkin verran enemmän. Kaikkiaan kolmessa vertaisarvioidussa raportissa Covid-19-tapausten näytteitä oli yhteensä noin 180, verrokinäytteitä hieman enemmän.

Tutkimuksissa käytettiin näytteinä eri eritteitä, yhdessä tutkimuksessa useampia eritetyyppejä verrattiin toisiinsa (Jendrny et al. 2021). Eräissä tutkimuksissa eritteen kerääminen tai sen prosessointi testeissä käytettyyn muotoon on kuvattu vajavaisesti tai täysin kuvaamatta (Eskandari et al. 2021, Grandjean et al. 2021).

Kuudesta alkuperäistuloksia koirien Covid-19-tunnistuksesta sisältäneestä raportista viidessä kuvattiin huolellisesti sekä koiran että koiran hoitajan tai kouluttajan sokkouttaminen validointivaiheessa sille, mitkä tunnistettavat kohteet kussakin testisarjassa sisälsivät Covid-19-potilaalta peräisin olevaa materiaalia. Yhdessä ei kuvattu tutkimusasetelmaa niin yksityiskohtaisesti, että voisi päätellä, sokkoutettiinko koira ja kouluttaja (Eskandari et al. 2021).

Lähimpänä laajan mittakaavan seulonnan toteutuksen kenttäolosuhteita oli hikinäytteen tai pitkään käytetyn vaatteiden haistelu, jota käytettiin neljässä tutkimuksessa (Grandjean et al. 2020, Grandjean et al. 2021, Jendrny et al. 2021, Eskandari et al. 2021). Näiden täsmällistä käyttötapaa näytteenä ei kuitenkaan kuvattu.

Enemmistössä tutkimuksia kukin koira haisteli samoja näytteitä lukuisissa testisarjoissa, jolloin kokonaistestimäärä kasvoi hyvinkin suureksi. Yhdessä vertaisarvioimattomassa tutkimuksessa oli laajalle kentälle asetettu 100 näytekeppiä, jotka koira haisteli 100 näytteen testisarjan kerrallaan ad 10 kertaa (Vesga et al. 2020). Muissa tutkimuksissa käytettiin

kussakin testisarjassa 3–10 näytetelinettä, ja koira teki yhden testisarjan kerrallaan. Osassa tutkimuksia koira koulutettiin siihen, että kukin alle 10 testin sarja sisälsi vain yhden Covid-19-tapauksesta peräisin olevan näytteen.

Tunnistustuloksista laskettiin enemmistössä tutkimuksista sensitiivisyyttä ja spesifisyyttä koskevia tunnuslukuja menetelmillä, joissa samojen näytteiden moneen kertaan testaamisen tuoma virhe tai epävarmuus sen vaikutuksesta tulokseen verrattuna suurempien näyttemäärin testaukseen vain yhden kerran ei käy ilmi. Toisaalta yhdessä tutkimuksista koirat tunnistivat eri näytesarjat (Jendry et al. 2021), mutta näistä laskettiin ryhmänä sensitiivisyyden ja spesifisyyden tunnusluvut, jotka eräiltä osin ilmaisivat korkeata suorituskykyä (Liite 2).

Samojen näytteiden tunnistuksen toisto ja metodinen kirjavuus tuovat epävarmuutta siihen, mitkä todellisuudessa olisivat spesifisyys, sensitiivisyys, negatiivinen poissulkuarvo ja positiivinen ennustearvo. Suurella samojen näytteiden toistotunnistuksella saatuja tunnuslukuja ei myöskään voi verrata laboratoriotestien kliinisessä validoinnissa tavanomaisissa tutkimusasetelmissä saavutettuihin tunnuslukuihin.

Tutkittavan ominaisuuden esiintyvyys (prevalenssi) validoinnissa käytettävässä näyttemateriaalissa on tärkeä määritellä erityisesti positiivisen ennustearvon kannalta: mitä matalampi esiintyvyys, sen suurempi osa positiivisista löydöksistä on vääriä positiivisia. Yhdessä vielä vertaisarvioimattomassa tutkimuksessa Covid-19-tapauksista peräisin olevien näytteiden esiintyvyyttä vaihdeltiin välillä 1–5 %, mutta tässä tutkimuksessa näytteitä oli vain 12 SARS-CoV-2-potilaasta sekä isommasta määrästä verrokkeja, joiden näytteitä kukin koira haisteli yhteensä jopa 10 eri testiajossa (Vesga et al. 2020).

On olennaista tiedostaa, että väärä positiivinen löydös voi johtaa mm. tahdonvastaisiin liikkumisvapauden rajoituksiin, joilla voi olla myös juridisia seuraamuksia. Tämä korostaa sitä, että tunnistukseen käytettyjen menetelmien ja kriteereiden tulee olla riittävän laadukkaita ja verrattavissa osuvuudeltaan terveydenhuollon luvanvaraisiin diagnostisiin teknologioihin (Koivusalo ja Reeve 2018).

Eri hengitystieinfektioiden aiheuttajaviruksiin liittyviä taudinkuvia ei voi erottaa toisistaan oireiden ja kliinisten löydösten perusteella. Erotusdiagnostisen osuvuuden varmistamiseksi verrokkeina tulee validoinnissa käyttää myös muiden mikrobien aiheuttamia hengitystieinfektioita sairastavia henkilöitä; nyt näitä oli vain yhdessä raportissa, ja siinäkin näytteitä vain neljästä muuta hengitystieinfektiota sairastavasta henkilöstä.

Vain yhdessä tutkimuksessa oli mukana kolme oireetonta Covid-19-taudin aiheuttajan kantajaa, eikä näiden tuloksia eritelty (Jendrny et al. 2021). Jos koiran hajuaistin käytön tavoitteena on esim. matkustajien nopea seulonta, on odotettavissa, että merkittävä osa infektion kantajista olisi testattaessa oireettomassa vaiheessa.

Vaikka Covid-19-taudin aiheuttajan tartunnat koirilla ovat harvinaisia, niitä on kuvattu. Tämä asettaa rajoituksia sille, miten koira voi haistella esimerkiksi hengitysilmaa. Tutkimuksissa koirien bioturvallisuuden tarve johti erilaisiin erityisjärjestelyihin näytteiden käsittelyssä.

Yhdessä tutkimuksessa asetelma ei sisältänyt koiran sijoittumista testin kohteena olevan henkilön lähistölle, eli varsinaista henkilöhaistelun pikaseulontaan tähtäävää kenttäsovellusta ei julkaistuissa raporteissa ole toteutettu.

Tutkimuksissa käytettyjen koirarotujen kirjo on laaja. Yksittäisten koirien välillä on vaihtelua tunnistuksen sensitiivisyydessä ja spesifisyydessä, ja niiden tunnistuksen osuvuus voi vaihdella päivästä toiseen. Tutkimuksissa kuvatut koirien koulutusmenettelyt poikkesivat toisistaan.

Useimmissa tutkimuksissa tuotiin esille, että Covid-19-tapausten laboratoriodiagnostiikassa käytetyillä PCR- ja pikamenetelmillä esiintyy vääriä negatiivisia ja vääriä positiivisia tuloksia, mikä täytyy suhteuttaa koiran hajuaistia käyttävän menetelmän osuvuuden arviointiin (Axell-House et al. 2020). Vakiintuneiden laboratoriomenetelmien näytelaatu sekä näytteenoton ja testin toteutuksen prosessit ovat kuitenkin täsmällisesti kuvattuja ja vakioituja. Koirien avulla tapahtuva seulonta sisältää toistaiseksi enemmän epävarmuutta aiheuttavia prosessin osia, jotka pitää validoida kuvata ja todentaa tarkemmin.

5 Johtopäätökset

Kirjallisuudessa koirien hajuaistin käytöstä Covid-19-taudin tai sen aiheuttajan oireetoman kantajuuden seulonnassa löytyi kuusi alkuperäistuloksia sisältävää raporttia, joista kolme on vertaisarvioitu. Tutkimusasetelmat ja menetelmät poikkesivat toisistaan ja raportoinnissa oli merkittäviä puutteita.

Yksikään tutkimusasetelma ei sisältänyt koiran sijoittumista testin kohteena olevan henkilön lähelle, eli varsinaista sairastuneen henkilön tunnistamiseen tähtäävää kenttäsovelusta ei raportoitu.

Mahdollisesti lähimpänä laajan mittakaavan diagnostiikan tai seulonnan kenttäolosuhteita oli hikinäytteen tai pitkään käytetyn potilasvaatteen haistelu, jota käytettiin kahdessa tutkimuksessa.

Tutkimukset antavat pohjan jatkotutkimuksille koirien hajuaistin käyttämisestä Covid-19-taudin tai sen aiheuttajan kantajuuden seulonnassa. Niistä ei voi vetää johtopäätöstä vakiomenetelmästä, joka voitaisiin ottaa käyttöön laboratoriodiagnostiikan rinnalla tai sen sijasta esimerkiksi seulottaessa suuria määriä henkilöitä, joiden joukossa on myös oireettomia infektion kantajia.

6 Lähteet

6.1 Johdanto-osan viittaukset sekä alkuperäistuloksia sisältävät raportit

- Amann A, Costello B, Miekisch W, Schubert J, Buszewski B, Pleil J et al. The human volatilome: Volatile organic compounds (VOCs) in exhaled breath, skin emanations, urine, feces and saliva. *J Breath Res* 2014;8(3):034001 doi: 10.1088/1752-7155/8/3/034001
- Angle C, Waggoner LP, Ferrando A, Haney P, Passler T. Canine detection of the volatilome: a review of implications for pathogen and disease detection. *Front Vet Sci* 2016;3(Jun):1-7
- Axell-House D, Lavingia R, Rafferty M, Clark E, Amirian E, Chiao E. The estimation of diagnostic accuracy of tests for COVID-19; A scoping review. *J Infect* 2020;81:681-697
- Bomers M, van Agtmael M, Luik H, Vandenbroucke-Grauls C, Smulder Y. A detection dog to identify patients with *Clostridium difficile* infection during a hospital outbreak. *J Infect* 2014;69: 456-61
- Buszewski B, Ligor T, Jezierski T, Wenda-Plesik A, Walczak M, Rudnicka J. Identification of volatile lung cancer markers by gas chromatography-mass spectrometry: comparison with discrimination by canines. *Anal Bioanal Chem* 2012;404:141-6
- Eskandari E, Marzaleh M, Roudgari H et al. Sniffer dogs as a screening/diagnostic tool for COVID-19: a proof of concept study. *BMC Infect Dis* February 2021 <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-021-05939-6>
- Grandjean D, Sarkis D, Lecoq-Julien C et al. Can the detection dog alert on COVID-19 positive persons by sniffing axillary sweat samples? A proof-of-concept study. *PLoS ONE* 15(12):e0243122 <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0243122>
- Grandjean D, Al Marzooqi D, Lecoq-Julien C et al. Use of canine olfactory detection for Covid-19 testing study on U.A.E. trained detection dog sensitivity. *bioRxiv* January 20, 2021 <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.01.20.427105v1>
- Guest C, Pinder M, Doggett M, Squires C, Affara M, Kandeh B, et al. Trained dogs identify people with malaria parasites by their odour. *Lancet Infect Dis* 2019;19(6):578-80
- Jendryny P, Schulz C, Twele F et al. Scent dog identification of samples from Covid-19 patients – a pilot study. *BMC Infect Dis*, July <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-020-05281-3>
- Jendryny P, Twele F, Meller S et al. Scent dog identification of SARS-CoV-2 infections, similar across different body fluids. *bioRxiv* March 2021 <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.03.05.434038v1.full.pdf>
- Koivusalo M, Reeve C. Biomedical scent detection dogs: Would they pass as a health technology? *Pet Behav Sci* 2018;6:1-7
- Lesniak A, Walczak M, Jezierski T, Sacharczuk M, Gawkowski M, Jaszczak K. Canine olfactory receptor gene polymorphism and its relation to odor detection performance by sniffer dogs. *J Hered* 2008;99(5):518-527
- McCulloch M, Jezierski T, Broffman M, Hubbard A, Turner K, Janecki T. Diagnostic accuracy of canine scent detection in early- and late-stage lung and breast cancers. *Integr Cancer Ther* 2006;5:30-9

- Pickel D, Manucy G, Walker D, Hall S, Walker J. Evidence for canine olfactory detection of melanoma. *Appl Anim Behav Sci* 2004;89:107-116
- Rooney NJ, Guest CM, Swanson LCM, Morant SV. How effective are trained dogs at alerting their owners to changes in blood glycaemic levels?: Variations in performance of glycaemia alert dogs. *PLoS One* 2019;14(1):1-16
- Schmidt K, Podmore I. Current challenges in volatile organic compounds analysis as potential biomarkers of cancer. *J Biomark* 2015;2015:1-16. doi: 10.1155/2015/981458
- Sonoda H, Kohnoe S, Yamazato T, Satoh Y, Morizono G, Shikata K et al. Colorectal cancer screening with odour material by canine scent detection. *Gut* 2011;60:814-819
- Taylor MT, McCready J, Broukhanski G, Pirpalancy S, Lutz H, Powis J. Using dog scent detection as a point-of-care tool to identify toxigenic *Clostridium difficile* in stool. *Open Forum Infect Dis* 2018;5(8):1-4
- Taverna G, Tidu L, Grizzi F, Torri V, Mandressi A, Sardella P et al. Olfactory system of highly trained dogs detects prostate cancer in urine samples. *J Urol* 2015;193:1382-7
- Walker D, Walker J, Cavnar et al. Naturalistic quantification of canine olfactory sensitivity. *Appl Anim Behav Sci* 2006;97:241-254
- Vesga O, Valencia A, Mira A et al. Dog Savior: Immediate Scent-Detection of SARS-CoV-2 by Trained Dogs. *bioRxiv* June 2020. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.06.17.158105v1.full.pdf>
- Willis C, Church S, Guest C, Cook W, McCarthy N, Bransbury A et al. Volatile organic compounds as biomarkers of bladder cancer: Sensitivity and specificity using trained sniffer dogs. *Cancer Biomark* 2010;8:145-153

6.2 Aihepiiriä koskevat kirjallisuushaun artikkelit, jotka eivät sisällä alkuperäistuloksia

- Else H. Can dogs smell Covid? Here's what the science says. *Nature* 2020;587:830-1 <https://www.nature.com/articles/d41586-020-03149-9>
- Dickey T, Junqueira H. Toward the use of medical scent detection dogs for COVID-19 screening. *J Osteopath Med* 2021;121(2):141-8 <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/jom-2020-0222/html>
- Jones R, Guest C, Lindsay S et al. Could bio-detection dogs be used to limit the spread of COVID-19 by travelers? *J Travel Med* August 2020 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7454791/pdf/taaa131.pdf>
- Mills G. Sniffing out Covid-19. *Vet Rec* 2020;186(15):472-473. <https://doi.org/10.1136/vr.m1753>
- Sakr R, Ghsoub C, Rbeiz C et al. COVID-19 detection by dogs: from physiology to field application – a review article. *Postgrad Med J* 2021 <https://pmj.bmj.com/content/early/2021/02/10/postgradmedj-2020-139410>
- Sharun K, Jose B, Tiwari R et al. Biodetection dogs for COVID-19: an alternative diagnostic screening strategy. *Public Health*, Jan 19, 2021 <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003335062100007X?via%3Dihub>

Liite 1. Kirjallisuushaun toteutus 21.3.2021

Tietokanta	Hakusanat	Tulokset
PubMed	biodetection dogs Covid; sniffing dogs Covid; sniffing Covid; dogs detect Covid; dogs detection Covid; scent detection dogs Covid; scent dog SARS-CoV-2	löytyi 92 artikkelia (suurelta osin eri hauissa samoja), joista abstraktien perusteella 9 käsitteli haun aihepiiriä
Medline/Ovid	samat kuin PubMed-haussa, mutta hyvin suuren ehdolla olleen artikkelimäärän fokusoimiseksi hyväksyttiin vain, kun hakukone luokitteli artikkelin luokan A-sopivuuteen ('5 stars')	löytyi 82 artikkelia (merkittävä osa eri hauissa samoja), joista ei PubMed-hakuun nähden löytynyt yhtään lisää haun kohteena olevaan aihepiiriin kuuluvia artikkeleita
WHO:n Covid-hakujärjestelmä Search COVID-19 (bvsalud.org)		löytyi kolme bioRxiv-arkistossa olevaa alkuperäistuloksia sisältävää artikkelia, jotka eivät ole myöhemmin ilmestyneet vertaisarvioituina
Tunnistettujen kuuden alkuperäistuloksia sisältäneen raportin ja kuuden katsaus- tai uutistyyppisen kirjoituksen viiteluetteloista ei löytynyt aihepiiriin kuuluvia artikkeleita, joita haut eivät olisi tunnistaneet.		

Liite 2. Tutkimustulosten tilastolliset tunnusluvut (%).

Tutkimusasetelmista sekä samojen näytteiden toistuvasta tunnistamisesta johtuen tunnuslukujen merkitys ei ole verrattavissa tavanomaisessa diagnostisten menetelmien validoinnissa saataviin tunnuslukuihin.

Viite (Luku 3)	Tutkimuksen vaihe	Näyte	Herkkyys	Tarkkuus	Positiivinen ennustearvo	Negatiivinen ennustearvo	Onnistumisosuus
3.1	Koulutus		89	97	75	99	
	Validointi		96	99	86	99	
3.2			83	96	84	96	
3.3	Validointi		84	95			
		Hiki	91	94	97	77	
		Sylki	82	96	76	95	
		Virtsa	95	98	99	90	
3.4							90
3.5	Koulutus						70–100
	Validointi						72–100
3.6	Validointi I		65	89	73	83	
	Validointi II		86	93	90	90	

